

最近のトピックス

副甲状腺ホルモン受容体の新しい研究展開

A New Horizon of Studies on Parathyroid Hormone Receptor

新潟大学歯学部口腔解剖学第一講座

網塚憲生

1st Department of Oral Anatomy

Niigata University School of Dentistry

Norio Amizuka

骨代謝における基礎研究は、形態学、生化学、遺伝子学ばかりでなく、発生学や血液学などの分野も動員して行われており、非常に多岐にわたって研究が行われている。骨代謝の最も重要な因子である副甲状腺ホルモンとその受容体の研究もそれに平行して新しい局面に至っている。ここでは、最近のトピックスとして、副甲状腺ホルモン受容体の遺伝子異常に起因する軟骨・骨異形成症と、副甲状腺ホルモン受容体の遺伝子発現調節を中心に記載する。

(1) 副甲状腺ホルモン受容体の遺伝子異常

骨および軟骨細胞の分化増殖のメカニズムの研究は歯科領域を含めて全身の骨代謝・カルシウム調節ばかりでなく、個体発生や先天性骨格疾患の解明にもおよぶ。特に、副甲状腺ホルモン受容体 (PTH/PTHrP 受容体) は軟骨細胞の分化増殖に必須であることが明らかにされている。近年、先天性骨格異常を呈する患者のうち、Jansen 型骨幹端軟骨異形成症と Blomstrand 軟骨異形成症が PTH/PTHrP 受容体の遺伝子変異に起因することが明らかにされている。1934年に Murk Jansen により発表された骨幹端部の骨異形成症 (Metaphysäre Dysostosis), すなわち Jansen 型骨幹端軟骨異形成症の患者において、MGH の Schipani らがこの受容体のコード領域を検索したところ、細胞内第一ループに相当するエクソン内の223番目のアミノ酸がヒスチジンからアルギニンに変異していることを発見した¹⁾。また、His-Arg mutation 受容体は細胞膜上の数は少なく、イノシトールリン酸の蓄積は PTHrP などのリガンドと結合しても認められないが、一方、リガンドがなくても adenylate cyclase は常に活性化しているため、cAMP が産生されていることが明らかにされている。このため、彼は骨幹端軟骨および骨組織の異常は PTH/PTHrP 受容体のリガンドに依存しない異常活性に起因すると結論づけてい

る。さらに近年、他の Jansen 型骨幹端軟骨異形成症患者においては第6番目の細胞膜ドメインにも T410P の変異が認められることが報告されている。

一方、受容体の機能を全く果たさない Blomstrand 型の変異 PTH/PTHrP 受容体を有する患者においては、母親由来の受容体遺伝子における1176番目の塩基がグアニンからアデニンに変異していることが明らかにされている²⁾。1176 (G → A) 変異の結果、第5番目の膜貫通領域のはじめの11個のアミノ酸が欠落しており、受容体には PTH および PTHrP とともに結合しないことが報告されている。この Blomstrand 型の軟骨異形成症は、1985年に先天性致死の小人症として報告されたことに始まり、水腫、巨舌症、四肢の短縮、かつ増加した骨密度を特徴とする骨格性先天異常として述べられている。また、我々は、別の Blomstrand 型軟骨異形成症患者の PTH/PTHrP 受容体の遺伝子配列の解析を行ったところ、132番目のアミノ酸がプロリン (CCG) からロイシン (CTG) に点突然変異を起こしていることを明らかにした³⁾。この変異株受容体は細胞膜上に局在するにも関わらず、リガンドである PTH, PTHrP とともに結合することは出来ず、従って、PTH/PTHrP の signal transduction が行えないことを解明している。偶然にも、この結果は同年に報告された Zhang らの結果と全く同じであり⁴⁾、我々および Zhang らも、変異型受容体タンパクは in vitro で発現させた COS cell の細胞膜に局在するが、cAMP やイノシトールリン酸の合成が起こらないことを認めている。

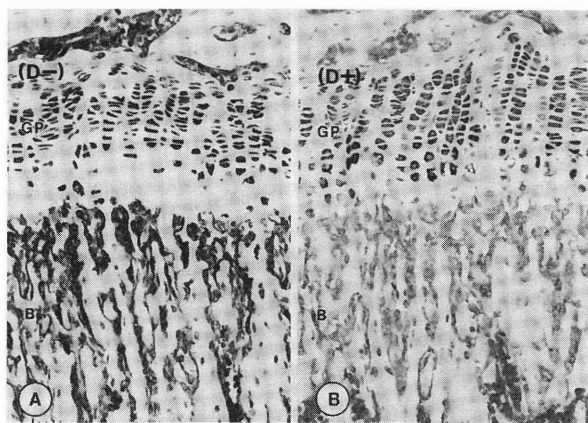
(2) 副甲状腺ホルモン受容体の発現制御機構

PTH/PTHrP 受容体は PTH/PTHrP シグナルを伝達させることで骨代謝回転を調節するが、他の骨代謝調節ホルモンとして活性型ビタミン D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) が存在し、骨・カルシウム代謝は血中カルシウム濃度とこれらの相互作用でなりたっている。従って、PTH/PTHrP 受容体の遺伝子発現に対して $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ がどのように作用するか興味を持たれる。そこで、生後5週齢のマウスに $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を2日間投与し、脛骨切片上にて PTH/PTHrP 受容体のコード領域から得られたプローブを用いて in situ ハイブリダイゼーションを行った⁵⁾。その結果、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与群において軟骨では PTH/PTHrP 受容体の発現には違いが認められなかったが、骨における発現が著しく抑制されていた。一方、以前の報告で、マウスの PTH/PTHrP 受容体のプロモーター領域は上流と下流の2つが存在し、腎臓では上流が、骨・軟骨では下流プロモーターが主に機能するこ

とを報告している⁶⁾。そこで、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ による PTH/PTHrP 受容体の発現抑制が下流プロモーターから起こり得るか明らかにするために、下流プロモーターに特異的なプローブを用いた *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。その結果、骨における下流特異的な発現は $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与群の骨では著しく抑制されたのに対し、軟骨の PTH/PTHrP 受容体の発現は違いが認められなかった。従って、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ による PTH/PTHrP 受容体の遺伝子発現の抑制は骨に特異的であり、その機構として PTH/PTHrP 受容体の下流プロモーターから制御を受けることが強く示唆された。また、軟骨の PTH/PTHrP 受容体の発現は $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ によっては強く抑制されないことが明らかになった。このことは骨芽細胞系細胞と軟骨細胞の培養細胞でも確認されている⁵⁾。また、軟骨における PTH/PTHrP シグナルは主に細胞の分化増殖に対して作用するものであり、骨芽細胞のように $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ などとの協調作用でカルシウム代謝に関与するものではない可能性が推測される。

(3) 第3の副甲状腺ホルモン受容体の発見

PTH/PTHrP 受容体は、1991年に Jüppner らにより PTH と PTHrP が同等の親和性を持って結合しうる“PTH/PTHrP 受容体”として cloning されている。PTH/PTHrP 受容体はカルシトニンやセクレチンに対する G タンパク共役性レセプターと同様の構造を示しており、細胞膜を7回貫通する α -helix 構造をとる。ところが、1995年に、Usdin により PTH に対する第2番目の受容体 (PTHR2) が発見されており、PTH/PTHrP 受



$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与した生後5週齢のマウス(D+)とコントロールマウス(D-)の脛骨における PTH/PTHrP 受容体の *in situ* ハイブリダイゼーション。コントロールでは成長板軟骨(GP)の増殖細胞層から肥大化細胞層の上部にかけて受容体の発現が認められるが、骨(B)では骨芽細胞系細胞に広く観察される。一方、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与では、軟骨の発現はコントロールと比較して変わらないが、骨における受容体の発現が明らかに低下している。

(文献5より引用)

容体とは20%の homology しか示さないことが明らかにされている。この受容体は中枢神経、脾臓、精巣、胎盤に存在するが腎臓には検出されない。興味深いことに、PTHR2に対して PTHrP よりも PTH が高い親和性を有して結合することが述べられている。この報告は PTH と PTHrP に同等に結合し、生物活性を示す従来の受容体と異なり、PTH 特有の受容体である可能性が考えられる。さらに、ごく最近の情報では、MGH の Jüppner のグループでは、昨年アメリカ骨代謝学会と国際骨代謝学会の合同会議で zebrafish に第3の PTHrP 受容体が存在することを報告しており、1991年に cloning された PTH/PTHrP 受容体とは約60%の homology を示すと述べている⁷⁾。この受容体が哺乳類でも存在し生理学的に PTHrP シグナルを伝えているとすれば、骨格形成における PTH/PTHrP の解明に大きな貢献をもたらすことが考えられる。

参考文献

- 1) Schipani E, Klaus K et al A constitutive active mutant PTH-PTHrP receptor in Jansen-type metaphyseal chondrodysplasia. *Science* 268 : 98, 1995.
- 2) Jobert AS, Zhang P. et al. Absence of functional receptors for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide in Blomstrand chondrodysplasia. *J Clin Invest.* 102 : 34, 1998.
- 3) Karaplis A, He MB, et al. Blomstrand chondrodysplasia caused by a missense mutation in the human parathyroid hormone receptor-1. *Endocrinology.* 139(12) : 5255, 1999.
- 4) Zhang P, Jobert AS. et al A homozygous inactivating mutation in the parathyroid hormone/parathyroid hormone-related peptide receptor causing Blomstrand chondrodysplasia. *J. Clinical Endocrinol. Metab.* 83 : 3365, 1998.
- 5) Amizuka N, Kwan M, et al. Vitamin D3 differentially regulates parathyroid hormone/parathyroid hormone-related peptide receptor expression in bone and cartilage. *J. Clin. Invest.* 103 : 373, 1999.
- 6) Amizuka N, Lee HS, et al. Cell-specific expression of the parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor gene in rat kidney from kidney-specific and ubiquitous promoters. *Endocrinology* 138 : 469, 1997.
- 7) Rubin D. A., Jüppner H. Molecular cloning of a zebrafish cDNA encoding a novel parathyroid hormone (PTH)/PTH-related protein (PTHrP) receptor (RRP). *Bone* 23, S255, 1998.